

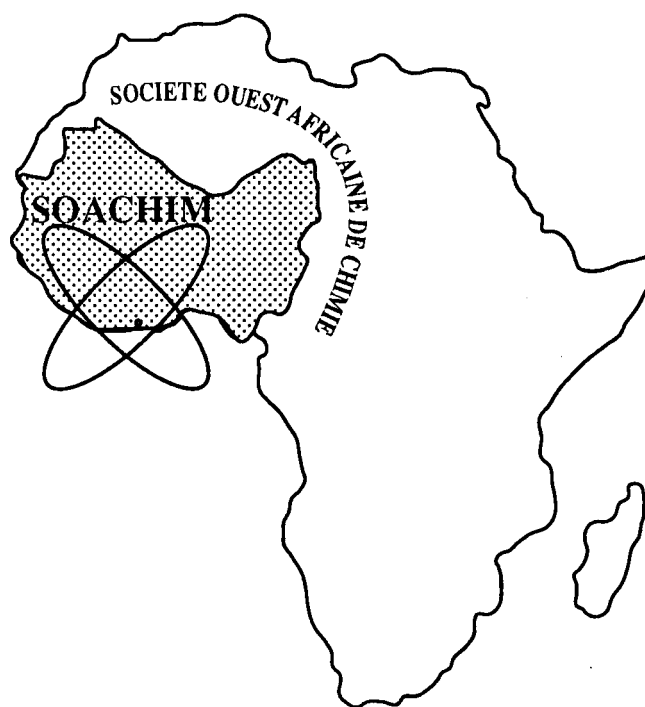
*Activité antimycosique et screening  
phytochimique des différents extraits de  
Terminalia catappa linne un antifongique de  
source naturelle.*

**Jacques Auguste Alfred Bognan Ackah,  
Kouamé Raphael Oussou, Djédoux Maxime Angaman,  
Bini Kouamé Dongui, Allico Joseph Djaman**

***Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie***

*J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*(2016), 042 : 36 - 42

21<sup>ème</sup> Année, Décembre 2016



ISSN 0796-6687

Code Chemical Abstracts : JSOCF2

Cote INIST (CNRS France) : <27680>

Site Web: <http://www.soachim.org>

## Activité antimycosique et screening phytochimique des différents extraits de *Terminalia catappa* linne un antifongique de source naturelle.

Jacques Auguste Alfred Bognan Ackah<sup>1,2\*</sup>, Kouamé Raphael Oussou<sup>1,3</sup>, Djédoux Maxime Angaman<sup>1</sup>, Bini Kouamé Dongui<sup>5</sup>, Allico Joseph Djaman<sup>2,4</sup>

1-UFR Agroforestérie, Filière Biochimie-Microbiologie, Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG), BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire.

2-Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique, UFR-Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny Abidjan, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

3-UFR Agroforestérie, Laboratoire de Mathématique, Physique Chimie Informatique (LMPCI), UJLoG, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire.

4-Département de Biochimie Fondamentale et Clinique, Institut Pasteur de Cote d'Ivoire (IPCI) Bp 490, Abidjan 01 (Cote d'Ivoire).

5- UFR Environnement, Laboratoire MPC, UJLoG, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire.

\*

(Reçu le 10/03/2016 – Accepté après corrections le 27/12/ 2016)

**Résumé :** Malgré le nombre relativement considérable de médicaments antimycosiques, les échecs thérapeutiques sont nombreux. Très peu sont les molécules commerciales existantes qui montrent une activité certaine et effective. Dans le but d'apporter sa contribution dans la lutte contre ces pathologies, notre équipe de recherche a testé quatre différents extraits de *Terminalia catappa* linne sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. Les résultats montrent que *Candida albicans* est sensible aux extraits testés. L'extrait le plus actif est la fraction F<sub>12</sub> (CMF = 5µg/mL) et l'extrait le moins actif est l'extrait aqueux (CMF = 780 µg/mL). Le screening phytochimique de *Terminalia catappa* linne a permis de mettre en évidence la présence des composés appartenant au groupe des saponosides triterpeniques qui seraient responsables de l'activité antifongique de la fraction F<sub>12</sub>.

**Mots clés:** *Terminalia catappa*, screening phytochimique, *Candida albicans*

## Antimycotic activity and screening phytochemical extracts *Terminalia catappa* linne a different natural source of antifungal.

**Abstract:** In spite of the relatively large number of antifungal drugs, treatment failures are many. Most of commercial molecules are inefficacies. In order to contribute in the fight against these diseases, our research team tested four different extracts of *Terminalia catappa* linne on the *in vitro* growth of *Candida albicans*. The results show that *Candida albicans* is sensitive to the extracts tested. The most active fraction is F<sub>12</sub> (CMF = 5µg / mL) and the aqueous extract is the less active (CMF = 780 mg / mL). The phytochemical screening of *Terminalia catappa* linne has revealed the presence of triterpene belonging to the saponins group, which would be responsible for the antifungal activity of the fraction F<sub>12</sub>.

**Keywords:** *Terminalia catappa*, phytochemical screening, *Candida albicans*

---

\* Auteur de Correspondance : jacquackah@yahoo.fr

## 1. Introduction

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles <sup>[1]</sup>. Les plantes occupent donc une place de choix dans le traitement des affections aussi bien en Afrique que dans le monde entier. Adjanohoun et Aké <sup>[2]</sup> ont répertorié plus de 5000 espèces végétales médicamenteuses sur le continent africain. Ces plantes constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations rurales en Afrique, où plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer leurs soins de santé <sup>[3,4]</sup>. Cela est justifié par le fait que dans la pharmacopée locale, des recettes ont fait et continuent de faire leurs preuves d'efficacité.

Dans le but de trouver de nouvelles molécules antifongiques, *Terminalia catappa*, une *Combretaceae* originaire de Madagascar <sup>[5]</sup>, a été sélectionnée après un screening de plantes utilisées contre les affections microbiennes. Cette plante est utilisée traditionnellement pour des soins *post-partum*, contre les manifestations diarrhéiques, les candidoses buccales et digestives <sup>[6,7]</sup>. En Côte d'Ivoire *Terminalia catappa* intervient dans l'ornementation.

Pour mieux comprendre l'activité de cette plante, trois extraits et la fraction F<sub>12</sub> de *Terminalia catappa* ont été réalisés puis testés *in vitro* sur *Candida albicans*. Aussi avons nous effectué un screening phytochimique afin de déterminer les différents groupes chimiques présents dans ces extraits.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel

#### 2.1. 1. Matériel biologique

##### 2.1. 1. 1. Substance végétale

Le matériel végétal est une poudre obtenue à partir des écorces séchées de *Terminalia,catappa*. C'est une espèce arborescente pouvant atteindre 5 à 25 m de haut. Dans cette étude, le nom de code donné à cette plante est TEKAM<sub>3</sub>. Elle est connue en milieu traditionnel pour ses vertus anti-infectieuses. Cette plante a été identifiée par le Professeur Aké Assi du Centre National de floristique (CNF) de Université Félix Houphouët Boigny (Abidjan, Côte d' Ivoire) un spécimen a été déposé.

#### 2.1.1.2. Champignon testé

L'isolat no 3076/PV de *Candida albicans* a servi de matériel microbiologique dans cette étude. Il a été isolé pour la première fois par le laboratoire de mycologie de l'UFR des Sciences Médicales de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody Abidjan (Côte d'Ivoire) en 2000 sur un patient atteint de mycose superficielle.

### 2.1. 2. Matériel technique

#### 2.1. 2. 1. Milieu de culture

La gélose Sabouraud (BIOMERIEUX/ Réf: 51078: 777666501) a été utilisée pour la culture des germes fongiques. La composition en g/L d'eau distillée de ce milieu est consignée dans le **Tableau I**.

**Tableau I** : Composition en g/L d'eau distillée de la gélose Sabouraud

| Composition chimique  | Teneur (g/L d'eau) |
|-----------------------|--------------------|
| Bio thione            | 3                  |
| Glucose               | 19                 |
| Phosphate monosodique | 0,5                |
| Phosphate dissodique  | 0,5                |
| Bio-trypcase          | 3                  |
| Agar                  | 13                 |
| - Extrait de levure   | 2                  |
| Extrait de malt       | 1                  |
| Bio-soyase            | 3                  |
| Le pH du milieu est   | 6,4                |

#### 2.1. 2. 2. Produits chimiques

Pour la préparation des différents extraits (totaux, partitionnés et chromatographique), nous avons utilisé comme solvants : l'acétate d'éthyle, l'hexane, l'éthanol pur et l'eau distillée.

Pour le tri phytochimique, nous avons utilisé les solvants suivants :

- Acétate de sodium est utilisé pour la recherche des Tanins galliques
- Acide chlorhydrique intervient dans la recherche des Flavonoïdes et des Quinones.
- Acide sulfurique est employé pour rechercher les Stéroïdes et Terpènes.
- Anhydride acétique est requis pour rechercher les Stéroïdes et Terpènes.
- Chlorure ferrique sert à rechercher les Phénols et les Tanins galliques
- Chloroforme est utilisé pour rechercher les Tanins en général et les Quinones.
- Copeaux de magnésium, ils permettent de mettre en évidence les Flavonoïdes.

- Perchlorure de fer intervient dans la recherche des Tanins galliques
- Iode est utilisé pour rechercher les Alcaloïdes
- Nitrate de Bismuth intervient dans la recherche des Alcaloïdes
- Mercure est exploité dans la recherche des Tanins
- Soude sert à rechercher les Quinones
- Ammoniac est employé pour rechercher les Quinones
- Eau de chaux intervient dans la recherche des Quinones
- Ethanol est utilisé pour rechercher les Alcaloïdes.
- Hydroxyde d'ammoniaque s'emploie dans la recherche des Coumarines.

Pour la chromatographie sur couche mince:

- Le Gel de Sephadex®G25 a servi à réaliser la colonne de chromatographie sur colonne,
- La Plaque de silice (60 F254) a été le support de la chromatographie sur couche mince (CCM),
- Le Méthanol a été l'un des solvants constituant l'éluant de la plaque de silice,
- Eau distillée a été utilisée comme éluant pour la chromatographie sur colonne et également l'un des solvants de la plaque de silice.

## 2.2. Méthodes

### 2.2. 1. Préparation des extraits totaux

L'écorce de *Terminalia catappa* a été récoltée, découpée et séchée à l'abri du soleil. Après leur séchage, les organes végétaux ont été pulvérisés à l'aide d'un broyeur électrique.

A partir de cette poudre, deux extraits totaux aqueux et éthanolique ont été séparément préparés comme suit :

Dans deux litres de solvants (un litre d'eau distillée pour la préparation de l'extrait aqueux et un litre d'éthanol 70% pour la préparation de l'extrait éthanolique) à l'aide d'un blender (mixer), 100g de poudre de TEKAM<sub>3</sub> ont été extraits. L'homogénat obtenu est d'abord essoré dans un carré de tissu, puis filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre Whatman 3 mm. Le filtrat obtenu est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Büchi à la température de 60° C.

L'extrait éthanolique est concentré évaporé à sec, tandis que l'extrait aqueux est seulement lyophilisé. L'extrait éthanolique est appelé X<sub>0</sub> et l'extrait aqueux Xaq.

Une portion de 10 grammes de X<sub>0</sub> est partitionnée dans 100 mL d'un mélange de solvants (hexane -

eau ; v/v). Après décantation, deux phases ont été séparées et concentrées à l'aide d'un évaporateur rotatif. On obtient respectivement les extraits :

X1.1 : (la phase hexanique) et X1.2 : (la phase aqueuse issue de la partition hexane-eau).

X1.2 a été ensuite chromatographié sur une colonne de filtration de sephadex G<sub>25</sub> (diamètre=1cm ; hauteur du gel = 55 cm ; débit = 0,22 mL/mn). Nous avons obtenu 20 fractions (F1 à F20).

Les extraits les plus actifs (Xaq, X<sub>0</sub>, X<sub>1,2</sub>) et la fraction la plus active F<sub>12</sub> ont été testés séparément sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*.

## 2.2. 2. Préparation des milieux de culture

### 2.2. 2. 1. Préparation de la gélose Sabouraud.

Le milieu de Sabouraud a été préparé en homogénéisant dans 150 mL d'eau distillée, 6,3 g de gélose en poudre. Ce mélange est chauffé et agité jusqu'à homogénéité complète, sur un agitateur magnétique chauffant (IKA-MAG- RCT).

Pour réaliser les tests *in vitro*, le milieu a été coulé dans différents tubes à essai auxquels on incorpore les différents extraits de TEKAM<sub>3</sub> conformément à la méthode décrite par Guédé<sup>[8]</sup>.

### 2.2. 2. 2. Incorporation des extraits végétaux à la gélose.

Nous avons utilisé la méthode de la double dilution, en tubes inclinés pour incorporer l'extrait végétal (TEKAM<sub>3</sub>) à la gélose. La série d'essais comporte 12 tubes numérotés de 1 à 12. Le milieu précédemment préparé a été réparti dans ces 12 tubes à raison de 20 mL dans le premier tube et 10 mL dans les autres tubes allant du n°2 au n°12. Le milieu de Sabouraud a été préparé en homogénéisant dans le tube n°1, 1g de Xaq dans 20 mL de milieu de Sabouraud. La moitié du volume de ce mélange homogène est transférée dans 10mL de gélose du tube n°2 et homogénéisée.

Cette opération est reprise pour le tube n°3 et ainsi de suite par double dilution jusqu'au tube n°10; donnant une gamme de concentration décroissante allant de 50 mg/mL à 0,09 mg/mL avec une liaison géométrique de raison 1/2.

Cette série comporte aussi deux tubes témoins n°11 et 12, contenant chacun 10 mL d'Agar ; dont le tube n°11 pour le contrôle de croissance des germes sans Xaq et le tube n°12 pour le contrôle de la stérilité de l'Agar sans germes et sans extrait. Les 12 tubes de cette série ont été stérilisés à l'autoclave de marque PBI STEMATIC III à 121°C pendant 15 minutes et inclinés (avec petit culot) à la température de la

salle (25°C) pour permettre à la gélose de se solidifier [9, 10, 11].

**2.2. 3. Essais antimicrobiens**

Les essais antimicrobiens ont été réalisés pareillement pour la souche de *Candida* testé. A partir de culture jeune de *Candida* (48 heures d’incubation), l’inoculum a été préparé comme suit :

Une jeune colonie de *Candida* prélevée à l’aide d’une anse a été homogénéisée dans 10 mL d’eau distillée stérilisée. On obtient ainsi la suspension mère (10<sup>0</sup>) concentrée à 10<sup>6</sup> cellules/mL. A partir de cette suspension, une seconde suspension (10<sup>-1</sup>) a été préparée par dilution au 1/10<sup>ème</sup> de la première. Elle porte une charge de 10<sup>5</sup> cellules/mL.

Pour chacun des tubes à essais de chaque série des dix extraits (sauf le tube de contrôle de stérilité du milieu de culture), la culture des germes a été faite sur les milieux précédemment préparés par l’ensemencement de 10 µL de la suspension 10<sup>-1</sup> en stries transversales jusqu’à épuisement. Cela correspond à 1000 cellules ensemencées. Les cultures ainsi réalisées ont été incubées à 30°C pendant 48 heures.

Après 48 heures d’incubation, les colonies de *Candida* ont été dénombrées par comptage direct à l’aide d’un stylo compteur de colonies (N° de série 23382 de marque Scinceware de Bel-Art). La croissance dans les huit tubes expérimentaux de chaque série a été évaluée en pourcentage de survivance calculé par rapport à 100% de survivance dans le tube témoin de contrôle de croissance [12, 13,14]. Le traitement de données expérimentales a permis de déterminer les paramètres antifongiques suivants :

- la concentration minimale inhibitrice (CMI) : c’est la concentration minimale pour laquelle il n’y a aucune croissance visible à l’œil nu.

- la concentration minimale fongicide (CMF) : C’est la plus faible concentration d’extrait qui laisse au plus 0,01% de survivance par rapport au tube témoin de contrôle de croissance. Elle est déterminée par un test de stérilité du tube correspondant à la CMI en ensemençant un échantillon prélevé à la surface de la gélose de ce tube sur une gélose neuve.

- la concentration pour 50% d’inhibition (CI<sub>50</sub>) : c’est la concentration qui donne 50% d’inhibition estimée par rapport au nombre de colonies dénombrées dans le tube témoin de contrôle de croissance. Ce paramètre est déterminé graphiquement.

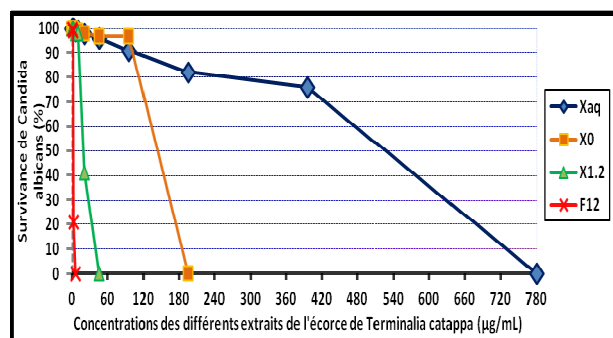
**2. 4. Méthodes chimiques**

L’étude chimique a pour but de détecter la présence des constituants chimiques des quatre extraits de TEKAM<sub>3</sub>. Les méthodes utilisées pour la détermination de ces constituants chimiques sont celles qui sont classiquement utilisées (par exemple pour rechercher les stéroïdes et les terpénoïdes l’on utilise la réaction de LIEBERMAN-BUCHARD) dans le screening chimique des plantes médicinales.

**3. Résultats**

Après 48 heures d’incubation à 30°C, on observe comparativement au témoin, une diminution progressive du nombre de colonies de *Candida albicans* au fur et à mesure que les concentrations des extraits végétaux augmentent dans les tubes expérimentaux.

Des inhibitions nettes et effectives ont été obtenues à différentes concentrations selon les extraits. Les données expérimentales traduites sous forme de courbes de sensibilité sont présentées à la **figure 1**.



**Figure 1 :** Sensibilité comparée de *Candida albicans* aux extraits X<sub>aq</sub>, X<sub>0</sub>, X<sub>1.2</sub> et F<sub>12</sub>

De façon générale, toutes les courbes de sensibilités présentent une allure décroissante avec des pentes plus ou moins fortes selon les extraits. La courbe de sensibilité de l’extrait F<sub>12</sub> présente une pente plus forte que celle de l’extrait X<sub>aq</sub> qui a la sensibilité la plus faible. Les valeurs des CMF et des CI<sub>50</sub> pour tous les quatre extraits sont consignées dans le **tableau II**.

**Tableau II :** Paramètres antifongiques comparés des extraits X<sub>Aq</sub>, X<sub>0</sub>, X<sub>1.2</sub> et F<sub>12</sub>

| Extractions de TEKAM <sub>3</sub> | X <sub>aq</sub> | X <sub>0</sub> | X <sub>1.2</sub> | F <sub>12</sub> |
|-----------------------------------|-----------------|----------------|------------------|-----------------|
| Paramètres antifongiques          |                 |                |                  |                 |
| CMF (µg/mL)                       | 780             | 190            | 40               | 5               |
| CI <sub>50</sub> (µg/mL)          | 538             | 139            | 18               | 1,6             |

Nos investigations ont porté sur la recherche de huit groupes chimiques à savoir : alcaloïdes, polyphénols, tanins catéchiques, tanins galliques, flavonoïdes, saponosides, quinones et stérols. Pour mieux qualifier l'abondance des constituants chimiques recherchés dans ces extraits, des scores variant de 0 à 4 (absence ou présence) ont été attribués. Ainsi, l'absence est symbolisée par un score 0, la présence en faible quantité par un score 1, la présence en quantité moyenne par un score 2 et enfin l'abondance par un score 4 (figures 2).

Pour la suite des travaux, nous avons voulu séparer ces 2 éléments de la fraction F<sub>12</sub> par chromatographie sur couche mince (CCM). Les résultats sont résumés par la figure 3.

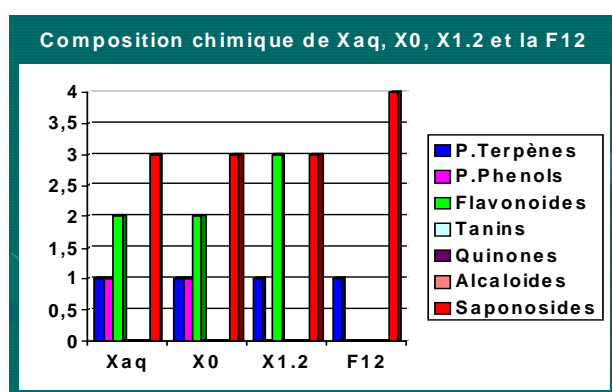


Figure 2 : Compositions chimiques des extraits X<sub>aq</sub>, X<sub>0</sub>, X<sub>1.2</sub> et F<sub>12</sub>

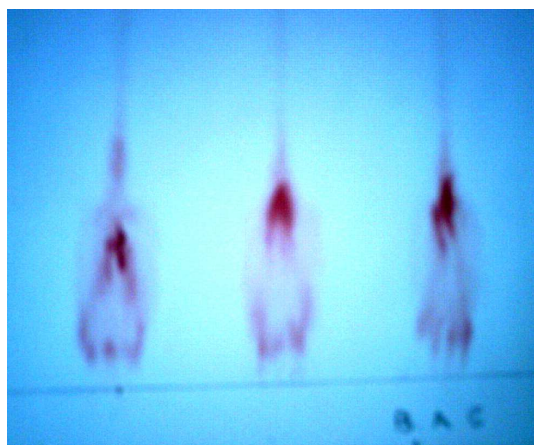


Figure 3 : Photographie de la Chromatographie sur couche mince de F<sub>12</sub> à la lumière

Sur la ligne de départ, nous avons fait 3 dépôts. La phase mobile était le mélange butanol-acide acétique-eau dans les proportions 60 ; 25 ; 15. La réaction a été faite avec le réactif de Godin. On pulvérise ensuite les plaques avec une solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 10%). La plaque a été chauffée à 105°C. La révélation du chromatogramme à la vanilline sulfurique a donné une grosse tache de coloration

rose violette témoignant de la nature triterpénique des saponosides.

## 4. Discussion

### 4. 1. Analyse des activités antifongiques

Nous avons de prime abord préparé l'extrait aqueux étant donné que l'eau est le solvant le plus utilisé pour la préparation des recettes traditionnelles.

Nos données expérimentales montrent que pour l'extrait aqueux (X<sub>aq</sub>) comparativement aux témoins, il y a une diminution progressive du nombre de colonies en fonction de l'augmentation de la concentration de X<sub>aq</sub> dans les tubes. Cet isolat est donc sensible à l'extrait selon une relation dose-effet (voir figure 1 et tableau II). Dans toutes nos expériences, des inhibitions nettes et effectives (CMF) de la croissance de *Candida albicans* ont été observées à partir des concentrations de 780 µg/mL. Ces résultats sont meilleurs que ceux de Bagré<sup>[15]</sup>, qui a obtenu avec l'extrait total aqueux de *Morinda morindoides* une inhibition de *Candida albicans* avec une valeur de CMF égale à 300 mg/mL soit 300 000 µg/mL pour 48 heures d'incubation. L'extrait aqueux de TEKAM3 est donc 364 fois plus actif que l'extrait total aqueux de *Morinda morindoides*. X<sub>aq</sub> est Aussi 192 fois plus actif que l'extrait aqueux de *Abrus precatorius* (CMF = 150 mg/mL soit 150 000 µg/mL) contre *Candida albicans*<sup>[16]</sup> et 2 fois plus actif que l'extrait aqueux de *Thonningia sanguinea* (CMF = 1,56 mg/mL soit 1560 µg/mL) contre *Candida albicans*<sup>[17]</sup>.

En plus de ces premières investigations, nous avons voulu savoir si des extraits préparés avec des solvants organiques pourraient être plus actifs. Au regard des travaux de Kra et Zirihi<sup>[13]</sup>, nous avons choisi le mélange éthanol eau (70/30 ; v/v) comme solvant d'extraction. C'est à partir de ce solvant que nous avons préparé l'extrait éthanolique codifié X<sub>0</sub>. L'analyse des résultats des tests antifongiques avec X<sub>0</sub> de TEKAM3 montre que *Candida albicans* est sensible à l'extrait testé. Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que X<sub>0</sub> a des activités antifongiques. Ces résultats révèlent que les valeurs des CMF de X<sub>0</sub> sont égales à 190 µg/mL pour *Candida albicans*. La comparaison de ces résultats avec ceux de Kra et Zirihi<sup>[13]</sup> révèle que contre *Candida albicans*, X<sub>0</sub> est nettement plus actif que l'extrait éthanolique de *Microglossa pyrifolia* (PYMI1) (CMF= 25000 µg/mL). Le rapport établi sur la base des CMF, montre que CMFPYMI1/CMF X<sub>0</sub> = 25000/190 =131

en faveur de  $X_0$ . Ce qui signifie que  $X_0$  est 131 fois plus actif que PYMI1.

Au regard de ce qui précède, nous déduisons que lorsque nous passons de  $X_{aq}$  à  $X_0$ , nous améliorons l'activité antifongique de  $X_{aq}$  de 4 fois vis-à-vis de *Candida albicans*. Cet extrait concentre mieux les principes actifs de *Terminalia catappa*. Il a été retenu pour les essais d'amélioration de l'activité antifongique de TEKAM3.  $X_0$  a été partitionné dans un mélange de solvants hexane- eau pour obtenir  $X_{1,2}$ . Les valeurs des concentrations inhibitrices obtenues révèlent que  $X_{1,2}$  a des activités antifongiques. Ces résultats révèlent que les valeurs des CMF de  $X_{1,2}$  sont : 40  $\mu\text{g/mL}$  sur *Candida albicans*

Par rapport aux extraits totaux aqueux et éthanoliques, la comparaison sur la base de la valeur des CMF montre que  $X_{1,2}$  est 4 fois plus actif que l'extrait de base ( $X_0$ ) ayant servi à sa préparation. Cette même analyse montre que  $X_{1,2}$  est 19 fois plus actif que l'extrait total aqueux. Vu ses performances intéressantes par rapport aux autres extraits,  $X_{1,2}$  a servi de base à un fractionnement chromatographique sur gel de filtration sephadex  $G_{25}$ . Cette chromatographie a donné 20 fractions. La fraction  $F_{12}$  a présenté le meilleur potentiel antifongique. En effet avec les valeurs de  $\text{CMF}=5\mu\text{g/mL}$  et de  $\text{CI}_{50}=1,4\mu\text{g/mL}$ , cette fraction est 8 fois plus active que  $X_{1,2}$  qui a servi à sa préparation. Elle est également 32 fois plus active que  $X_0$ . Le rapprochement de ces performances avec celles de  $X_{aq}$  révèle que  $F_{12}$  est 156 fois plus active que l'extrait total aqueux.

#### 4. 2. Analyse du Screening phytochimique.

L'analyse des résultats de cette étude montre que  $X_{aq}$  et  $X_0$  contiennent les polyterpènes, les polyphénols, les flavonoïdes et les saponosides. Il y a une abondance très marquée de saponosides et de flavonoïdes. L'extrait  $X_{1,2}$  ne contient que 3 éléments. Mais il renferme les mêmes éléments présents dans  $X_{aq}$  et  $X_0$ . Pour la fraction  $F_{12}$ , les résultats révèlent qu'elle ne contient que les polyterpènes et les saponosides. Notons aussi que cette fraction est très riche en saponosides. L'analyse de ces résultats montre que l'activité antifongique n'est donc pas liée aux polyphénols et aux flavonoïdes présents dans  $X_{aq}$  et  $X_0$ . On constate que  $X_{aq}$  et  $X_0$  ont en commun polyterpènes, les polyphénols, les flavonoïdes et les saponosides. Cependant  $X_0$  est plus actif. Cette meilleure activité serait liée à une différence dans la structure de ces molécules ou à d'autres groupes de composés non mis en évidence ici. Selon les

travaux de Cowan [18], de Iwu [19] et de Ionela [20], l'activité antimicrobienne des flavonoïdes s'expliquerait par le fait qu'ils sont capables de complexer non seulement les protéines extracellulaires et solubles, mais aussi de rompre les membranes microbiennes entraînant la mort de la cellule.

Pour la suite des travaux, nous avons voulu séparer les polyterpènes et les saponosides contenus dans la fraction  $F_{12}$  par chromatographie sur couche mince (CCM).

• Chromatographie sur couche mince de  $F_{12}$

Le développement du chromatogramme révèle qu'il n'y a qu'une seule tache visible à la lumière montrant la présence d'au moins une seule entité chimique. La révélation du chromatogramme à la vanilline sulfurique montre que cette entité chimique est en réalité un triterpène saponoside. En clair, il ne subsiste dans  $F_{12}$  qu'une seule classe de molécules au lieu de deux comme tendait à montrer les résultats du tri phytochimique. L'activité antifongique de la fraction  $F_{12}$  serait due à des molécules qui appartiennent au groupe des saponosides triterpéniques.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Kubo [21], de Rana [22], de Suresh [23], de Cowan [18], de Iwu [19] et de Ionela [20]. Ces auteurs ont montré que les terpènes ont une action inhibitrice sur les germes fongiques. Leurs actions s'exerceraient sur la membrane cytoplasmique des micro-organismes en provoquant la lyse de la membrane.

#### 5. Conclusion

La méthode que nous avons mise au point permet non seulement de mieux concentrer mais aussi d'isoler le principe actif. Ces résultats de la CCM permettent donc d'avoir une idée plus précise de la nature chimique du principe actif. Cependant, ces travaux doivent se poursuivre afin de déterminer la structure chimique de ce principe actif par des méthodes combinées de spectroscopie de masse, d'infra rouge et de résonance magnétique nucléaire.

#### 6. Remerciement

Nos remerciements vont à l'endroit du laboratoire de mycologie de l'UFR des Sciences Médicales de l'Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan pour avoir fourni les germes afin de permettre la réalisation de ce travail, du Centre National de Floristique pour l'identification de la plante étudiée et en fin les membres du Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique de l'UFR Biosciences de l'Université Félix Houphouët Boigny.

## 6. Bibliographe

- [1] Baba-Aissa F., 2000: Encyclopédie des plantes utiles. Edition Librairie Moderne, Rouiba, 368p.
- [2] Adjanooun E. J. Et Ake-Assi L., 1979. Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire, CRES, Université de Cote d'Ivoire, 40-219.
- [3] Dibong S. D., Mpondo Mpondo E., Ngoye A., Kwin N. F. et Betti J. L., 2011: Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales vendues sur les marchés de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 37: 2496-2407.
- [4] Mpondo M. E. et Dibong S. D., 2012: Traditional knowledge on medicinal plants use by ethnic communities in Douala, Cameroon. *European Journal of Medicinal Plants*, 2: 159-176.
- [5] Seguena F., Soro K., Fofana H. et Traore D., 2010: Le Jardin Botanique de Bingerville en Côte D'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, 46: 627-642.
- [6] Ravelonjato B., Ranaivoson C. 1983: Contribution à l'étude chimique de *Terminalia mantaly* (Combretacée) Archives du Centre National de Recherches Pharmaceutiques, 2: 58-65.
- [7] Riviere C., Nicolas J.-P., Caradec M.-L., Desire O., Schmitt A., 2005: Les plantes médicinales de la région nord de Madagascar : une approche ethnopharmacologique, Bulletin de la Société Française d'Ethnopharmacologie, 36: 36- 49
- [8] Guede-Guina F., Vangah-Manda M., Bonga G. M et De Souza C., 1996: Activité antimicrobienne d'un extrait végétal contre les germes opportunistes au cours du SIDA. *Revue de Médecine et de Pharmacie d'Afrique*, 9: 13-19.
- [9] Kra A. K. M., 1997 : Evaluation des effets d'un nouvel anti- aspergillaire de source naturelle. DEA de Biotechnologie, Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire 30p.
- [10] Kra A. K. M., 2001 : Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. Thèse de Doctorat 3<sup>e</sup> cycle, UFR Biosciences, Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire, 126p.
- [11] Ackah J. A. A. B., 2004: Spectre anti-infectieux de MISCA-F3 sur la croissance *in vitro* *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*. Mémoire de DEA de pharmacologie des substances naturelles, UFR Biosciences, Université de Cocody-Abidjan Côte d'Ivoire, 34p
- [12] Thes P. M., 2001 : Recherche du profil antimicrobien des huiles de G243 et de MISCA sur quelques agents de mycoses de la peau. Mémoire de DEA de biotechnologies, option pharmacologie-microbiologie. Université de Cocody, Abidjan, Cote d'Ivoire ; 34p.
- [13] Kra A.K.M., Zirihi Guede N. & Guege-Guina F., 2003 : Evaluation et comparaison des activités antifongiques de *Fagara macrophylla* et de *Strychnos spinosa* sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. *Afrique biomédicale*, 5: 23-27.
- [14] Ackah J. A. A. B., Kra A. K.M., Zihiri G. N., Guede – Guina F. 2008: Evaluation et essais d'optimisation de l'activité anticandidosique de *Terminalia catappa* Linn (TEKAM<sub>3</sub>), un extrait de *Combretaceae* de la pharmacopée ivoirienne, Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 77 : 120-136.
- [15] Bagre I., 2004 : Spectre anti-infectieux de BGG, une substance anti diarrhéique de naturelle. Mémoire DEA. Biotechnologie, Université de Cocody- Abidjan. Côte d'Ivoire. 29 p.
- [16] Sanogo M., 2007 : Evaluation de l'activité antifongique de *Abrus precatorius* sur la croissance *in vitro* de *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Trichophyton mentagrophytes*. Mémoire DEA. Biotechnologie, Université de Cocody, Abidjan. Côte d'Ivoire. 32p.
- [17] Kouakou A. V., N'guessan J. D., Kra A. K. M. Et Guede-Guina F., 2007 : Activité antifongique et screening phytochimique de THOS (extrait aqueux de *Thonningia sanguinea*). *Revue Med. Pharm. Afr.* (20): 45-52.
- [18] Cowan M. M., 1999: Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12, (4): 564 -582.
- [19] Iwu M. M., Duncan A. R. and Okunji C. O., 1999: New antimicrobials of plant origin. Reprinted from: Perspectives on new crops and new uses. J. Janick (ed.), ASHS Press, Alexandria, VA. 457 – 462.
- [20] Ionela D. C., And Ion I. B., 2007: Plant products as antimicrobial agents. *Analele Științificeale Universității Alexandru Ioan Cuza*”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară, TOM VIII, 151–156.
- [21] Kubo I., Muroi H. And Himejima M., 1993: Combination effects of antifungal nagilactones against *Candida albicans* and two other fungi with phenylpropanoids. *J. Nat. Prod.* 56: 220 – 226.
- [22] Rana B. K., Singh U. P. and Taneja V., 1997: Antifungal activity and kinetics of inhibition by essential oil isolated from leaves of *Aegle marmelos*. *J. Ethnopharmacol.* 57:29-34.
- [23] Suresh B., Sriram S., Dhanaraj S. A., Elango K. and Chinnaswamy K., 1997. Anticandidal activity of *Santolina chamaecyparissus* volatile oil. *J. Ethnopharmacol.* 55:151-159.